

Penggunaan Berbagai Sumber Karbohidrat Terlarut Air untuk Meningkatkan Kualitas Silase Daun Rami

Addition of Water Soluble Carbohydrate Sources Prior to Ensilage for Ramie Leaves Silage Qualities Improvement

Despal*, I. G. Permana, S. N. Safarina, & A. J. Tatra

Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor
Jln. Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
(Diterima 12-12-2010; disetujui 24-03-2011)

ABSTRACT

Quality improvement of ramie leaves silage by the addition of water soluble carbohydrates (WSC) sources as many as 20% W/W fresh substance (FS) prior to 42 days of ensiling time was conducted in two experiments. First experiment examined three carbohydrate sources (cassava meal, pollard and coarse grinding corn) for their capacities to improve physical (color, odor, texture and spoilage), fermentative (pH, protein degradation, organic acid profiles), and utilities characteristics of the silages for ruminants (rumen fermentabilities and digestibilities) *in vitro*. The silages had bright greenish brown of color, lactic acid odor, and firm textures, categorized as highly fermentable and digestible feeds (dry matter digestibility >72%). Compare to other additives, cassava meal produced better silage. However, high butyric acid and protein degradation proportions in the silage were not seem in line to these data. Coarse grinding corn failed to do its function therefore produced poor silage quality. Second experiment was designed to confirm the previous results. Five carbohydrate sources (cassava meal, pollard, fine grinding corn, rice bran, and cassava extract meal) of the same functions were examined. The results confirmed that cassava meal produced very good ramie leave silages (Fleish number >80) while the others produced quite good ramie leaves silage qualities (Fleish number 40–60). All additives used in the second experiment succeeded to serve their functions in improving ramie leave silage qualities.

Key words: additive, ramie, silage, water soluble carbohydrate

PENDAHULUAN

Upaya integrasi usaha tanaman rami melalui pemanfaatan hasil ikutan daun rami menjadi pakan ternak telah dilaporkan oleh Despal (2007). Produksi hijauan rami di daerah beriklim sedang mencapai 100 ton/ha/tahun dengan proporsi dalam bahan kering sebesar 38% hijauan daun dan 62% hijauan batang sedangkan di daerah tropis dapat mencapai 3 kali lipat (Angelini *et al.*, 2000). Selain mengandung semua nutrisi utama yang diperlukan oleh ternak (Duarte *et al.*, 1997), setara dengan lucerne dan alfalfa (Ferreira *et al.*, 2007), daun rami dapat digolongkan hijauan sumber protein karena mengandung 21% protein kasar (PK), dan 20% serat kasar (SK) (Duarte *et al.*, 1997) yang dibutuhkan dalam ransum ternak ruminansia terutama

ternak perah. Penggunaan daun rami 20% dan 33% dalam ransum domba berbasis rumput lapang yang disertai suplementasi Cu, P, dan metionina, mampu mengatasi kehilangan bobot badan domba selama musim kemarau dan meningkatkan kandungan protein ransum mendekati rekomendasi kebutuhan ternak (Despal, 2007).

Daun rami diperoleh dari sisa pemanenan batang yang dilakukan secara periodik dengan interval 6 kali setahun di daerah tropis atau 3 kali setahun di daerah beriklim sedang (Angelini *et al.*, 2000). Agar dapat digunakan sebagai pakan harian ternak ruminansia, maka pengawetan basah menjadi silase daun rami perlu dilakukan.

Silase adalah pakan yang diawetkan melalui proses ensilasi, yaitu proses pengawetan pakan atau hijauan dengan menggunakan kerja spontan fermentasi asam laktat dalam kondisi *anaerob*. Bakteri asam laktat epifit (BAL) memfermentasi karbohidrat terlarut air dalam tanaman menjadi asam laktat dan sebagian kecil diubah menjadi asam asetat. Karena produksi asam-

* Korespondensi:
Telp: 0251-8626212.
E-mail: despal04@yahoo.com; despal@ipb.ac.id

asam tersebut, pH materi yang diensilasi menurun dan mikrob perusak dihambat pertumbuhannya (Chen & Weinberg, 2008). Peternak dapat menyediakan hijauan dengan kualitas yang stabil dan tidak banyak bergantung pada cuaca (Cavallarin *et al.*, 2005) dan menghasilkan kandungan nutrisi yang lebih tinggi dibandingkan hay. Teknologi tersebut di Indonesia yang terletak di daerah tropis, mengalami beberapa kendala.

Kandungan air hijauan (>80%) dan kapasitas bufer yang tinggi menyebabkan protein mudah mengalami proteolisis (Miron *et al.*, 2006; Hassanat *et al.*, 2007). Karbohidrat terlarut air dan BAL yang rendah serta kadar serat yang tinggi (Elferink *et al.*, 2000) menghasilkan silase berkualitas rendah. Agar mendapatkan silase yang baik, kadar air hijauan perlu diturunkan hingga 60%–70%, meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut air sehingga BAL dapat tumbuh dengan baik, menghindari pertumbuhan jamur dan mikroba merugikan, menurunkan kehilangan bahan kering (BK), dan protein kasar (PK) selama ensilasi (Nishino *et al.*, 2003). Salah satu upaya meningkatkan kualitas silase hijauan tropis adalah dengan penggunaan aditif pada proses ensilasi yang dapat menstimulasi fermentasi BAL (Nishino & Touno, 2005; Bureenok *et al.*, 2006; Rizk *et al.*, 2005; Jarkauskas & Vrotniakiene, 2004; Cavallarin & Borreani, 2008; Hassanat *et al.*, 2007; Kondo *et al.*, 2004^a; 2004^b) dengan penambahan bahan yang mengandung karbohidrat mudah terlarut dalam jumlah tinggi (Jarkauskas & Vrotniakiene, 2004; Kozelov *et al.*, 2008) dan penambahan absorban atau penyerap air (Nishino *et al.*, 2007).

Penelitian bertujuan untuk membandingkan penggunaan beberapa sumber karbohidrat (gaplek, pollard, jagung, onggok dan dedak) terlarut air pada proses ensilasi terhadap karakteristik fisik, fermentatif dan utilitas silase daun rami.

MATERI DAN METODE

Percobaan I

Penyediaan bahan silase. Percobaan I menguji pengaruh penambahan 3 sumber karbohidrat sebelum ensilasi (gaplek, pollard dan jagung giling) terhadap kualitas silase daun rami yang dihasilkan. Daun rami yang diensilasi diperoleh dari kebun petani anggota Kopontren Darussalam Garut. Sumber karbohidrat yang digunakan diperoleh dari *feedmill* sekitar Bogor. Percobaan dilakukan pada bulan Juli–Desember 2008.

Pembuatan silase. Sebanyak 2 kg daun rami segar yang sudah dipotong-potong menjadi 2 cm dimasukkan secara berselang seling dengan 400 g sumber karbohidrat ke dalam silo plastik berukuran 28 x 50 cm yang sesuai dengan banyaknya material yang diensilasi. Udara dalam kantong dikeluarkan dengan bantuan pompa vakum Pollicon merek Phillips. Kantong yang sudah kedap udara kemudian ditutup dan kantong plastik dilapisi hingga 3 lapisan agar tidak bocor. Kantong tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam *polybag* 60 x 120 cm agar tidak ada penetrasi cahaya. Ensilasi berlangsung anaerob pada suhu ruang selama 42 hari.

Analisis sampel. Peubah yang diukur pada percobaan ini adalah a) karakteristik fisik silase meliputi perubahan warna, aroma, tekstur dan keberadaan mikrob pembusuk; b) karakteristik fermentatif silase, yaitu nilai pH, kehilangan BK, perombakan protein, karbohidrat mudah larut air dan profil asam organik yang dihasilkan dari ensilasi; c) utilitas silase daun rami secara *in vitro* ditentukan berdasarkan fermentabilitas bahan organik membentuk *volatile fatty acid* (VFA), fermentabilitas protein menghasilkan amonia (NH₃), pencernaan BK dan bahan organik (BO).

Pengukuran pH menggunakan prosedur Naumann & Bassler (1997). Sebanyak 10 g silase dicampur 100 ml akuades, dihaluskan dengan *blender* selama 1 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Setelah itu, pH meter yang sudah ditera terhadap larutan standar (pH 4 dan pH 7), dimasukkan ke dalam sampel dan dilakukan pembacaan pH setelah 30 detik (stabil).

Kehilangan BK dan PK dihitung dari selisih BK dan PK awal dengan BK dan PK yang terdapat pada silase daun rami. Analisis BK dilakukan menggunakan oven pada suhu 105 °C hingga beratnya stabil. Analisis konsentrasi PK menggunakan metode Kjeldal (Nauman & Bassler, 1997). Protein yang dirombak selama ensilasi membentuk senyawa NH₃, dihilangkan dari silase dengan memanaskan silase, yang sudah terlebih dahulu ditambahkan NaOH 1 M hingga pH>10 pada oven 90 °C selama 6 jam sebagaimana prosedur yang digunakan oleh Carro & Miller (1999).

Pengukuran asam organik menggunakan metode Bevilacqua & Califano (1989). Sebanyak 5 g sampel ditimbang dan ditambahkan ke dalam 50 ml bufer (0.5% b/v ((NH₄)₂HPO₄ pada pH 2,24 dengan H₃PO₄) yang dilarutkan pada asetonitril (0.4% v/v)). Campuran yang dihasilkan dihomogenasi dan diekstraksi selama 1 jam, kemudian disentrifugasi pada 7.000 g sebanyak 6 kali dengan masing-masing sentrifugasi selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan disaring dengan kertas saring membran berukuran 0,45 µm sebanyak dua kali. Supernatan yang sudah disaring diinjeksikan ke HPLC (Jasco LC-900) yang dilengkapi dengan detektor Jasco UV-980, column Marchery Nagel C18 (120 x 5 mm) dengan temperatur 15 °C di bawah ambient sampai suhu 80 °C. Standar internal yang digunakan adalah reagen HPLC (Sigma Chemical Co., St.Louis, MO). Asam-asam organik muncul ketika supernatan yang telah diinjeksikan ke dalam HPLC dimasukkan ke dalam *white cheese pickled* berstandar eksternal dari masing-masing asam organik. Sampel tersebut melewati UV detektor dan terbaca oleh *chromatograph* sebagai rangkaian puncak-puncak asam-asam organik. Puncak asam organik laktat, asetat, dan butirir muncul berturut-turut pada menit ke-7, 8, dan 24.

Kadar VFA dan NH₃ silase diukur *in vitro*. Sebanyak 1 g silase daun rami yang sudah dikeringkan, digiling dan disaring menggunakan saringan berukuran 0,5 mm. Sampel dimasukkan ke dalam tabung fermentor bervolume 50 ml, kemudian ditambahkan 12 ml larutan bufer McDougall dan 8 ml cairan rumen lalu diaduk dengan gas CO₂ selama 30 detik dan ditutup rapat dengan *prop* karet yang berventilasi, kemudian diinkubasi selama 6 jam di dalam *shaker water bath* bersuhu 39 °C. Setelah

inkubasi, ditambahkan 2-3 tetes HgCl_2 jenuh ke dalam tabung fermentor untuk menghentikan aktivitas mikrob, kemudian tabung fermentor disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan digunakan untuk analisis NH_3 dan VFA. Analisis konsentrasi amonia dilakukan dengan metode mikrodifusi Conway, sedangkan produksi VFA diukur dengan teknik destilasi uap/steam distillation (General Laboratory Procedure, 1966).

Kecernaan silase daun rami pada ternak ruminansia diestimasi menggunakan metode *Hohenheim gas test* seperti yang dijelaskan oleh Menke *et al.* (1979). Sebanyak 230 mg sampel silase daun rami ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam *syringe* bervolume 100 ml. Sebanyak 30 ml media yang terdiri atas campuran cairan rumen dan larutan media dengan perbandingan 1 : 2 ditambahkan ke dalam *syringe* yang sudah berisi sampel. *Syringe* tersebut ditempatkan pada rotor dan dimasukkan dalam oven bersuhu 39 °C. Fermentasi dihentikan pada jam ke-24 dan produksi gas dibaca. Kecernaan bahan organik (organic matter digestibility= OMD) diestimasi dari produksi gas berdasarkan formula $\text{OMD (\%)} = 14,88 + 0,889 \text{ PG} + 0,045 \text{ PK} + 0,065 \text{ XA}$ dengan PG = produksi gas (ml/200 mg BK), XA = kadar abu (g/kg BK) dan PK = protein kasar (g/kg BK).

Rancangan percobaan dan analisis statistik. Percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Karakteristik fisik dan profil asam organik digambarkan secara deskriptif, sedangkan pengujian utilitas menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan waktu pengambilan cairan rumen yang berbeda sebagai kelompok seperti yang digunakan oleh Arroquy *et al.* (2005), Tessema & Baars (2004), Tafaj *et al.* (2005), dan Ben-Ghedalia *et al.* (2001). Perbedaan nilai tengah antar perlakuan dianalisa dengan sidik ragam (ANOVA) diikuti dengan uji Duncan.

Percobaan II

Percobaan II merupakan konfirmasi terhadap hasil pengukuran percobaan I yang kontradiktif.

Penyediaan bahan silase. Sebanyak 5 sumber karbohidrat ditambahkan sebelum ensilasi (gaplek, pollard, jagung giling halus, dedak dan onggok). Daun rami yang diensilasi diperoleh dari kebun petani anggota Koppontren Darussalam Garut, sedangkan karbohidrat yang digunakan diperoleh dari *feedmill* sekitar Bogor. Percobaan dilakukan pada bulan Maret-Juli 2009.

Pembuatan silase dan analisis sampel. Prosedur pembuatan silase sama dengan percobaan I. Peubah yang diamati adalah karakteristik fisik (warna, aroma, tekstur, dan tingkat kerusakan) dan karakteristik fermentatif silase (pH, kehilangan BK, perombakan protein, karbohidrat terlarut air, nilai Fleigh). Perombakan protein selama ensilasi menjadi NH_3 diukur dengan teknik difusi Conway (General Laboratory Procedure, 1966). Nilai Fleigh dihitung berdasarkan rumus $\text{NF} = 220 + (2 \times \text{BK (\%)} - 15) - (40 \times \text{pH})$ dengan NF = Nilai Fleigh; BK = Bahan Kering. Nilai NF 85–100 menyatakan

silase berkualitas baik sekali, 60–80 silase berkualitas baik, 40–60 silase berkualitas cukup baik, 20–40 silase berkualitas sedang dan silase berkualitas kurang baik jika mempunyai $\text{NF} < 20$ (Indikut *et al.*, 2009).

Rancangan percobaan dan analisis statistik. Percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Karakteristik fisik digambarkan secara deskriptif. Perbedaan nilai tengah perlakuan dianalisis dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I

Daun rami yang digunakan dalam pembuatan silase mengandung air 82% (Tabel 1). Kadar air yang tinggi menyebabkan proporsi BK rendah (18%) dan kapasitas bufer (Kb) tinggi. Ensilasi hijauan dengan BK rendah tidak akan menghasilkan fermentasi yang baik dan menyebabkan kehilangan nutrisi tinggi (Miron *et al.*, 2006), sedangkan kapasitas bufer tinggi akan menyebabkan tingginya proteolisis protein (Hassanat *et al.*, 2007). Bahan kering yang rendah dan kapasitas bufer yang tinggi akan menyebabkan koefisien fermentasi, yang menggambarkan kualitas silase, menjadi rendah (Weissbach & Honig, 1996). Kadar BK kurang dari 20% menyebabkan resiko pembusukan dan kehilangan BK selama ensilasi menjadi tinggi. Bahan basah atau BK rendah seperti daun rami perlu dicampur pakan kering (Nishino *et al.*, 2003) seperti gaplek, pollard, dan jagung yang memiliki BK >87% (Tabel 1).

Penambahan sumber karbohidrat dengan bahan kering tinggi, seperti gaplek (87,34%), pollard (89,66%) dan jagung (88,77%) sebanyak 20% B/B bahan segar menghasilkan BK bahan silase daun rami berturut-turut 29,56%; 29,94%; dan 29,98%. Target BK bahan silase dengan penambahan sumber karbohidrat adalah 32% sesuai dengan rekomendasi Cavallarin *et al.* (2005) sehingga fermentasi asam butirat dan perombakan protein dapat ditekan. Lebih rendahnya kadar BK dalam bahan silase (30%) dibandingkan sasaran (32%) disebabkan oleh rendahnya BK daun rami (18%) dibandingkan asumsi (20%) yang digunakan dalam perhitungan.

Ketiga sumber karbohidrat yang digunakan memiliki kadar bahan kering yang hampir sama untuk

Tabel 1. Komposisi nutrisi daun rami dan sumber karbohidrat penelitian

Bahan	Komponen				
	BK (%)	Abu (%BK)	PK (%BK)	LK (%BK)	SK (%BK)
Daun rami	18,00	20,50	16,35	6,36	13,61
Gaplek	87,34	2,37	3,34	1,16	5,50
Pollard	89,66	3,49	15,15	5,18	7,08
Jagung	88,77	0,81	7,49	5,11	2,31

Keterangan: BK= bahan kering; PK= protein kasar; LK= lemak kasar; SK= serat kasar

menyerap kelebihan air dari daun rami. Kemampuan daya serap karbohidrat ditentukan oleh luas permukaan serap atau ukuran partikelnya, dan keberadaan *coating*, seperti serat dan lemak, yang dapat menurunkan daya serap air bahan. Kadar protein yang tinggi pada pollard (15,15%) akan berkontribusi lebih tinggi terhadap PK bahan silase, namun kadar SK (7,08%) dan lemak (5,18%) yang juga tinggi, dapat menurunkan daya serapnya dibandingkan dengan gaplek yang mengandung lemak hanya 1,16% dan SK 5,50%.

Karakteristik fisik silase daun rami. Kualitas silase dapat dilihat dari karakteristik fisik (Ferreira & Mertens, 2005) setelah silase dibuka, meliputi warna, bau, tekstur dan adanya mikrob pembusuk (Haustein, 2003). Secara umum silase daun rami yang dihasilkan pada percobaan ini berwarna hijau kecoklatan. Proporsi warna coklat yang lebih banyak pada silase yang ditambah pollard menyebabkan warnanya lebih gelap dibandingkan yang ditambah gaplek dan jagung. Semakin gelap silase yang dihasilkan, maka kualitas silase semakin rendah.

Silase daun rami ditambah gaplek lebih masam dibandingkan dengan perlakuan silase lainnya, memiliki tekstur utuh, halus dan kering, sedangkan yang ditambah jagung tidak utuh, lembab, berlendir karena adanya mikrob pembusuk. Bagian silase yang mengalami pembusukan tersebut mencapai 8,4%. Hal ini diduga karena ukuran partikel jagung yang digunakan kurang halus sehingga menyebabkan luas permukaan serap dari jagung berkurang dan karbohidratnya lebih sulit dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat. Keuntungan lain ukuran partikel yang lebih halus juga mencegah kebocoran silo selama ensilasi sehingga fermentasi *anaerob* dapat berlangsung sempurna (DePeters *et al.*, 2003). Karakteristik fisik silase daun rami beraditif gaplek dan pollard mendekati kriteria silase berkualitas baik yakni berwarna hijau kecoklatan, beraroma asam, bertekstur utuh, dan halus (Haustein, 2003) serta tidak terdapat mikrob pembusuk.

Karakteristik fermentatif silase. Silase daun rami yang diberi gaplek memiliki nilai pH yang lebih rendah dibandingkan yang diberi pollard dan jagung (Tabel 2). Hal ini disebabkan oleh tingginya porsi karbohidrat terlarut (5%) dan rendahnya protein (3,34%) pada gaplek. Kadar karbohidrat terlarut air yang tinggi menyediakan karbohidrat terlarut yang diperlukan oleh BAL untuk tumbuh. Fermentasi substrat tersebut menghasilkan asam organik yang menyebabkan pH turun, sedangkan kadar protein yang rendah menyebabkan kapasitas bufer rendah sehingga pengasaman lebih mudah terjadi. Meskipun pollard mengandung karbohidrat terlarut air yang lebih tinggi (12,5%) yang mampu menyediakan lebih banyak karbohidrat terlarut bagi BAL, namun karena kadar proteinnya yang tinggi (15,5%) menyebabkan kapasitas bufer yang tinggi pula.

Haustein (2003) mengklasifikasikan bahwa silase yang baik memiliki pH <4,2 dan berkualitas sedang jika memiliki pH berkisar 4,5–5,2. Berdasarkan kriteria Haustein (2003), maka silase daun rami yang diberi gaplek dapat dikelompokkan pada silase berkualitas baik, sedangkan silase daun rami yang diberi pollard

berkualitas sedang. Jagung yang digunakan pada percobaan ini menghasilkan silase daun rami berkualitas rendah.

Proporsi protein yang didegradasi menjadi amonia selama proses ensilasi berkisar 20%–31% dan tidak dipengaruhi oleh jenis aditif. Silase dikategorikan berkualitas baik jika kadar amonia <50 g/kg total N atau setara dengan degradasi protein <4,1% (Zamudio *et al.*, 2009). Tingginya perombakan protein dapat disebabkan oleh tingginya kadar protein daun rami (>16%) dan kadar air yang mengarah pada fermentasi asam butirat (Cavallarin *et al.*, 2005).

Fermentasi silase yang baik didominasi oleh kerja BAL dan menghasilkan konsentrasi asam organik yang didominasi oleh asam laktat (Chen & Weinberg, 2008). Semakin tinggi konsentrasi asam laktat, maka semakin tinggi kualitas silase yang dihasilkan. Sebaliknya, proses fermentasi silase yang kurang baik menyebabkan *Clostridia* berkembang yang dicirikan oleh tingginya kadar asam butirat (Elferink *et al.*, 2000).

Penambahan karbohidrat terlarut air yang ditujukan untuk meningkatkan preservasi silase, dengan meyakinkan bahwa bakteri asam laktat mendominasi fase fermentasi tidak dapat diperlihatkan dari profil asam organik pada percobaan ini. Secara keseluruhan asam organik yang dihasilkan sangat rendah. Arvidsson *et al.* (2009) memperlihatkan silase berkualitas baik dengan kadar asal laktat sebesar 50,68–95,03 g/kg BK dan proporsi asam laktat, asetat, propionat dan butirat berturut-turut terhadap jumlah keempat asam organik tersebut berkisar 75,9%–92,8%; 5,9%–21,0%; 0,7%–6,3%; dan 0,32%–1,27%. Asam laktat yang dihasilkan pada percobaan ini berkisar 0,091–0,125 g/kg BK dengan proporsi asam laktat, asetat dan butirat terhadap total asam organik berturut-turut berkisar 52,18%–79,26%; 1,28%–2,81%; dan 10,89%–23,64%.

Tabel 2. Karakteristik fermentatif silase daun rami beraditif

Parameter	Aditif		
	Gaplek	Pollard	Jagung
pH	3,15±0,16 ^a	4,47±0,14 ^b	6,16±0,12 ^c
Degradasi protein (%)	28,1±5,6	20,5±4,3	23,8±7,8
Total asam organik (g/kg BK)	0,174	0,186	0,158
Asam laktat (g/kg BK)	0,091	0,119	0,125
Asam asetat (g/kg BK)	0,005	0,002	0,002
Asam butirat (g/kg BK)	0,041	0,026	0,017
Asam laktat (% total asam organik)	52,18	64,08	79,26
Asam asetat (% total asam organik)	2,81	1,28	1,29
Asam butirat (% total asam organik)	23,64	13,88	10,89

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Selain total asam organik yang rendah, proporsinya juga tidak sejalan dengan karakter fisik dan pH silase. Silase daun rami yang diberi gaplek dan pollard yang memiliki nilai pH rendah dan berkarakter fisik baik, memiliki proporsi asam butirat yang lebih tinggi dibandingkan silase daun rami yang diberi jagung. Kontradiksi hasil yang ditemukan tersebut dapat disebabkan oleh sulitnya kuantifikasi asam organik seperti yang dikemukakan oleh Hiraoka *et al.* (2010). Meskipun menggunakan HPLC, pemisahan dan kuantifikasi asam organik membutuhkan sistem preparasi yang ekstensif termasuk ekstraksi fase padat, ekstraksi fase cair-cair, dan derivatisasi.

Utilitas silase daun rami untuk ruminansia.

Fermentabilitas bahan organik silase dalam rumen menghasilkan *volatile fatty acid* (VFA) yang digunakan sebagai sumber energi utama untuk mikroba rumen (Orskov & Ryle, 1990). Silase daun rami yang diberi pollard menghasilkan VFA lebih tinggi dibandingkan yang diberi gaplek dan jagung (Tabel 3). Meskipun gaplek lebih mudah difermentasi dibandingkan pollard, namun karena sebagian besar bahan yang mudah larut dari gaplek sudah difermentasi oleh BAL pada ensilasi, maka bagian yang tersisa pada fermentasi mikroba rumen menjadi lebih rendah. Fermentabilitas silase yang diberi jagung lebih rendah. Hal tersebut dapat disebabkan partikel jagung yang kurang halus, sehingga lebih sulit difermentasi dalam rumen. Namun demikian, semua silase yang dihasilkan masih tergolong pada pakan yang mudah difermentasi dalam rumen dengan kisaran VFA yang lebih tinggi dibandingkan kisaran VFA pakan pada penelitian Wang *et al.* (2009), yaitu sebesar 93,4–99,6 mM.

Amonia adalah sumber nitrogen penting untuk sintesis protein mikrob dalam rumen (Despal, 2005). Namun demikian kadar amonia rumen yang terlalu tinggi tidak dapat dimanfaatkan jika tidak diimbangi dengan ketersediaan kerangka karbon dan hal tersebut menggambarkan degradasi protein pakan yang tinggi. Kadar NH_3 pada silase yang diberi pollard lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberi gaplek dan jagung. Rendahnya kadar amonia pada silase yang diberi gaplek dan jagung disebabkan oleh kandungan protein gaplek (3,34%) dan jagung (7,49%) yang lebih rendah, dibandingkan pollard (15,15%). Rataan NH_3 silase berkisar 13–19 mM, berada pada kisaran optimum untuk sintesis protein mikrob di rumen (McDonald *et al.* 2002), namun lebih tinggi dibandingkan kisaran kecukupan menurut

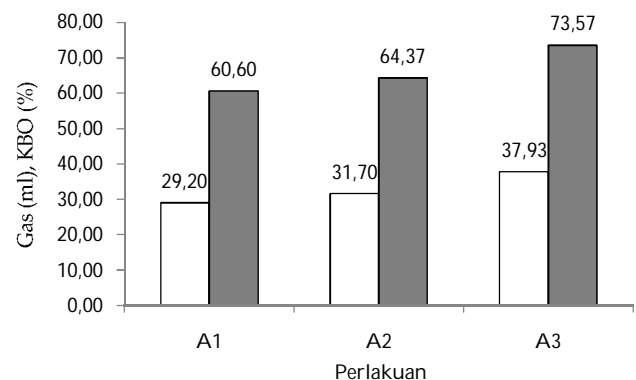
Wannapat *et al.* (2009), yaitu 5,4–8,8 mM.

Kecernaan bahan organik (KcBO) silase daun rami yang diberi sumber karbohidrat sejalan dengan produksi gas (Gambar 1). Kecernaan silase daun rami yang diberi karbohidrat memperlihatkan pola yang sama dengan fermentabilitas rumen. Meskipun silase yang diberi jagung lebih tahan degradasi dalam rumen dibandingkan dengan silase yang diberi pollard, namun menghasilkan kecernaan bahan organik yang paling tinggi (73,6%). Silase beraditif yang dihasilkan dalam penelitian ini tergolongkan pakan berkecernaan tinggi, lebih tinggi dibandingkan dengan silase hijauan sorgum yang berkisar hanya 50%–54% (Marco *et al.*, 2009).

Percobaan II

Bahan kering daun rami yang digunakan pada percobaan ini lebih rendah dibandingkan pada percobaan I (Tabel 4). Hal ini disebabkan daun rami yang digunakan pada percobaan II dipanen pada musim hujan. Kandungan PK daun rami memperlihatkan nilai yang relatif sama dengan yang diperoleh pada percobaan I.

Kandungan karbohidrat terlarut air daun rami (3,08%) tergolong sangat rendah sama seperti kebanyakan hijauan tropis (Downing *et al.*, 2008). Kandungan



Gambar 1. Produksi gas (□) dan kecernaan bahan organik (KBO= ■) silase daun rami beraditif. A1= silase beraditif gaplek; A2= silase beraditif pollard; A3= silase beraditif jagung.

Tabel 3. Utilitas silase daun rami dengan sumber karbohidrat berbeda untuk ruminansia (*in vitro*)

Parameter	Aditif		
	Gaplek	Pollard	Jagung
VFA (mM)	127,7±4,9 ^a	164,2±11,7 ^b	135,0±12,1 ^a
NH ₃ (mM)	13,2±2,1 ^a	19,4±2,9 ^b	11,2±0,4 ^a

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). VFA= *volatile fatty acid*; NH₃= amonia

Tabel 4. Kandungan nutrisi daun rami dan sumber karbohidrat

Bahan	BK (%)	Abu (%BK)	PK (%BK)	Karbohidrat terlarut air (%BK)
Daun rami	11,14	17,37	16,7	3,08
Onggok	82,85	19,18	2,02	3,10
Jagung	86,48	1,68	10,88	3,40
Pollard	86,26	5,16	15,53	12,52
Gaplek	82,28	5,92	1,52	5,04
Dedak	85,68	11,59	11,21	5,42

Keterangan: BK= bahan kering; PK= protein kasar.

karbohidrat terlarut air yang rendah menghasilkan koefisien fermentatif yang rendah (Weissbach & Honig, 1996). Kadar karbohidrat terlarut air tanaman bervariasi dan dipengaruhi oleh jenis dan varietas tanaman (Miron *et al.*, 2007), umur tanaman (Miron *et al.*, 2006; Nadeau, 2007) dan pola tanam (Dawo *et al.*, 2007). Menurut McDonald *et al.* (1991), kandungan karbohidrat terlarut air dalam hijauan untuk pembuatan silase yang berkualitas baik berkisar 3-5%. Sumber karbohidrat yang digunakan pada percobaan ini memiliki kandungan karbohidrat terlarut air yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun rami, yang diharapkan mampu menyediakan karbohidrat terlarut air untuk meningkatkan kinerja BAL.

Karakteristik fisik silase. Silase rami yang diberi pollard, gaplek dan dedak yang dihasilkan berwarna hijau kecoklatan dan lebih terang dibandingkan dengan yang diberi onggok dan jagung. Aroma silase daun rami yang diberi gaplek lebih asam dibandingkan dengan silase lainnya. Secara keseluruhan tekstur silase yang dihasilkan utuh, tidak berlendir, dan tidak menggumpal. Silase yang diberi gaplek menunjukkan adanya bercak jamur berwarna putih, sedangkan pada silase yang diberi dedak ditemukan bercak jamur berwarna putih dan merah. Namun jumlah silase yang terkontaminasi atau ditumbuhi jamur tersebut sangat sedikit (<0,1%). Jamur yang terdapat pada silase yang diberi gaplek dan dedak mungkin disebabkan adanya udara pada silo. Spesies atau genera Jamur (kapang dan khamir) yang diidentifikasi pada *bale-silage* oleh O'Brian *et al.* (2007) diantaranya *Penicillium roqueforti*, *Schizophyllum commune*, *Mucoraceous mould*, *Penicillium paneum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Trichoderma*, *Pichia fermentans*, *Geotrichum*, *Pichia anomala*, dan *Candida boidinii*.

Karakteristik fermentatif silase. Bahan kering silase daun rami yang dihasilkan sangat rendah dibandingkan BK silase yang diharapkan berkisar 30% yang dihitung secara teoritis dengan asumsi bahwa BK asal bahan berkisar 16%. Namun karena BK daun rami yang digunakan hanya berkisar 11% dan terjadi perombakan bahan kering selama proses ensilasi, maka BK yang dihasilkan kurang dari 22%. Kadar BK silase yang diberi dedak, pollard dan gaplek lebih tinggi dibandingkan

dengan yang diberi jagung dan onggok. Tingginya BK pada ketiga silase tersebut disebabkan oleh degradasi BK yang lebih rendah (Tabel 5).

Kehilangan BK selama ensilasi dipengaruhi oleh kandungan nutrisi bahan dan mikroorganisme yang terlibat pada ensilasi (McDonald *et al.*, 1991). BK yang hilang selama proses fermentasi diubah menjadi N-amonia, asam organik, gas seperti karbondioksida dan panas (Borreani *et al.*, 2007). BK yang hilang pada percobaan ini masih dalam batas normal, yaitu berkisar 2,3%-6,1%. Kehilangan BK silase sebanyak 2%-8% juga ditemukan oleh Cavallarin *et al.* (2005) pada ensilasi hijauan sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop).

Silase daun rami yang diberi gaplek memiliki nilai pH lebih rendah dibandingkan yang lainnya kecuali dengan yang diberi pollard. Seperti pada percobaan ke-1, penambahan gaplek mampu menurunkan pH lebih cepat dibandingkan dengan penambahan aditif lainnya. Penurunan pH yang cepat menghambat kerja mikroba pembusuk sehingga degradasi nutrisi dapat ditekan (Chen & Weinberg, 2008). Nilai pH silase yang diberi gaplek berada pada kisaran optimal menurut Haustein (2003), yaitu pH <4,2, sedangkan silase yang beraditif selain gaplek tergolong pada silase berkualitas sedang dengan pH berkisar 4,5-5,2.

Konsentrasi NH_3 silase pada penelitian ini <1,5% lebih rendah dibandingkan dengan pada percobaan ke-1. Jika dibandingkan dengan total N pada bahan awal (daun rami + sumber karbohidrat) maka perombakan protein menghasilkan amonia pada silase yang diberi gaplek (12,68%) dan onggok (13,95%) masih tergolong tinggi menurut klasifikasi Zamudio *et al.* (2009). Klasifikasi tersebut memberikan batasan total amonia maksimum 5%. Silase yang dihasilkan masih dalam kisaran kriteria silase berkualitas baik menurut (Elferink *et al.*, 2000) yang hanya mampu mempertahankan nutrisi 80%-92% dalam silase jagung. Kehilangan nutrisi selama ensilasi tidak hanya ditentukan oleh pertumbuhan mikroba pembusuk, dan kecepatan penurunan pH, namun juga ditentukan oleh sifat dari bahan pakan itu sendiri. Bahan seperti jagung lebih tahan degradasi dibandingkan dengan gaplek atau onggok sehingga menyebabkan kehilangan sedang pada proses ensilasi (Miron *et al.*, 2007).

Tabel 5. Karakteristik fermentatif silase daun rami yang diberi sumber karbohidrat berbeda

Parameter	Aditif				
	Gaplek	Pollard	Jagung	Dedak	Onggok
BK silase (%)	20,40±1,20 ^{bc}	20,40±1,32 ^{bc}	19,63±0,60 ^b	21,92±1,08 ^c	17,65±0,21 ^a
pH	4,06±0,02 ^a	4,51±0,12 ^{ab}	4,78±0,03 ^b	4,95±0,54 ^b	4,74±0,05 ^b
Amonia silase (%BK)	1,26±0,23 ^{bc}	0,92±0,21 ^a	1,00±0,01 ^{ab}	0,80±0,17 ^a	1,45±0,23 ^c
Degradasi BK (%)	3,27±1,20 ^{ab}	3,93±1,32 ^{ab}	4,73±0,60 ^{bc}	2,31±1,08 ^a	6,11±0,21 ^c
Degradasi protein (%)	15,42±2,49 ^b	5,20±0,56 ^a	6,86±0,49 ^a	5,48±1,13 ^a	16,96±2,74 ^b
Karbohidrat terlarut air (%BK)	5,99±0,82 ^c	4,32±1,43 ^{bc}	3,43±0,96 ^{ab}	2,04±1,17 ^a	2,99±1,03 ^{ab}
Nilai Fleigh	83,26±1,83 ^b	65,40±7,29 ^{ab}	52,92±22,14 ^a	50,84±1,94 ^a	50,70±1,94 ^a

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Kecuali pada silase yang diberi gaplek, terdapat kandungan karbohidrat terlarut air silase yang lebih rendah dibandingkan dengan kadar karbohidrat terlarut air pada bahan awal. Penurunan kadar karbohidrat terlarut air pada silase dapat dipahami karena digunakan oleh BAL selama ensilasi untuk memproduksi asam dan menurunkan pH silase (Chen & Weinberg, 2008; Ennahar *et al.*, 2003). Namun peningkatan karbohidrat terlarut air seperti pada silase yang diberi gaplek tidak banyak ditemukan. Hal tersebut dapat disebabkan oleh jumlah karbohidrat terlarut air yang digunakan oleh BAL lebih rendah dibandingkan dengan pelarutan karbohidrat terikat akibat kerja mikrob dan asam yang dihasilkan. Penurunan pH yang cepat pada silase yang diberi gaplek dengan perombakan karbohidrat terlarut air rendah, dapat disebabkan oleh rendahnya kapasitas bufer dari silase yang diberi gaplek dibandingkan dengan yang diberi pollard. Tingginya kapasitas bufer pada silase yang diberi pollard dapat disebabkan oleh tingginya kadar serat kasar dan protein pada silase tersebut yang berasal dari pollard.

Nilai *Fleish* merupakan indeks karakteristik fermentasi silase berdasarkan nilai BK dan pH dari silase (Indikut *et al.*, 2009). Berdasarkan kriteria tersebut, Nilai *Fleish* silase daun rami yang diberi gaplek dikategorikan baik sekali, silase yang diberi pollard tergolong berkualitas baik, sedangkan yang lainnya berkualitas cukup baik (Tabel 5).

KESIMPULAN

Penggunaan gaplek pada proses ensilase daun rami menghasilkan silase yang tergolong berkualitas baik sekali, sedangkan penggunaan pollard, jagung, dedak dan onggok menghasilkan silase daun rami berkualitas cukup baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada DP2M Dikti Kemendiknas atas kepercayaannya untuk mengelola dana penelitian melalui proyek Hibah Bersaing Perguruan Tinggi tahun 2008–2010 yang didesentralisasikan kepada IPB. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada petani rami dan pengelola Koppontren Darussalam Garut atas kesediaannya menyediakan materi penelitian dan diskusi-diskusi yang sangat membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Angelini, L. G., A. Lazzeri, G. Levita, D. Fontanelli, & C. Bozzi. 2000. Ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.) and Spanish Broom (*Spartium junceum* L.) fibres for composite materials: agronomical aspects, morphology and mechanical properties. *Industrial Crops and Products* 11: 145–161.
- Arroquy, J. I., R. C. Cochran, T. G. Nagaraja, E. C. Titgemeyer, & D. E. Johnson. 2005. Effect of types of non-fiber carbohydrate on in vitro forage fiber digestion of low-quality grass hay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120: 93–106.
- Arvidsson, K., A. M. Gustavsson, & K. Martinsson. 2009. Effects of conservation method on fatty acid composition of silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 148: 241–252.
- Ben-Ghedalia, D., R. Solomon, J. Miron, E. Yosef, Z. Zomberg, E. Zukerman, A. Greenberg, & T. Kipnis. 2001. Effect of water salinity on the composition and in vitro digestibility of winter-annual ryegrass grown in the Arava desert. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 139–147.
- Bevilacqua, A. E. & A. N. Califano. 1989. Determination of organic acids in dairy products by high-performance liquid chromatography. *J. Food Sci.* 54: 1076–1079.
- Borreani, G., E. Tabacco, & L. Cavallarin. 2007. A New Oxygen Barrier Film Reduces Aerobic Deterioration in Farm-Scale Corn Silage. *American Dairy Science Association*, 2007. [11 Januari 2010]
- Bureenok, S., T. Namihira, S. Mizumachi, Y. Kawamoto, & T. Nakada. 2006. The effect of epiphytic lactic acid bacteria with or without different byproduct from defatted rice bran and green tea waste on napiergrass (*Pennisetum purpureum* Shumach) silage fermentation. *J.Sci.Food Agric.* 86: 1073–1077.
- Carro, M. D. & E. L. Miller. 1999. Effect of supplementing a fibre basal diet with different nitrogen forms on ruminal fermentation and microbial growth in an in vitro semi-continuous culture system (RUSITEC). *British J. Nutr.* 82, 149–157.
- Cavallarin, L. & G. Borreani. 2008. Effect of the stage of growth, wilting and inovation in field pea (*Pisum sativum* L.) silages. III. Changes in the herbage and silage protein profiles. *J. Sci. Food Agric.* 88: 237–237.
- Cavallarin, L., S. Antoniazzi, G. Borreani, & E. Tobacco. 2005. Effects of wilting and mechanical conditioning on proteolysis in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) wilted herbage and silage. *J. Sci. Food Agric.* 85: 831–838.
- Chen, Y. & Z. G. Weinberg. 2008. Changes during aerobic exposure of wheat silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154: 76–82.
- Dawo, M. I., J. M. Wilkinson, F. E. T. Sanders, & D. J. Pilbeam. 2007. The yield and quality of fresh and ensiled plant material from intercropped maize (*Zea mays*) and beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Sci. Food Agric.* 87: 1391–1399.
- DePeters, E. J., G. Getachew, J. G. Fadel, R. A. Zinn, S. J. Taylor, J. W. Pareas, R. G. Hinders, & M. S. Aseltine. 2003. In vitro gas production as a method to compare fermentation characteristics of steam-flaked corn. *Anim. Feed Sci. Technol.* 105:109–122.
- Despal. 2005. *Nutritional Properties of Urea Treated Cocoa Pod for Ruminant*. Cuvillier Verlag, Goettingen.
- Despal. 2007. Suplementasi nutrisi defisien untuk meningkatkan penggunaan daun rami (*Boehmeria nivea*, L. Gaud) dalam ransum domba. *Med Pet.* 30 (3): 181–188.
- Downing, T. W., A. Buyserie., M. Gamroth, & P. French. 2008. Effect of Water Soluble Carbohydrates on Fermentation Characteristics of Ensiled Perennial Ryegrass. *The Profesional Animal Scientist* 24:35–39
- Duarte, A. A, V. C. Sgarbieri, & E. R. B. Juniar. 1997. Composition and nutritive value of ramie leaf flour for monogastric animals. *Reviata PAB* : 32 (12).
- Elferink, S. J. W. H. O., F. Driehuis, J. C. Gottschal, & S. F. Spoelstra. 2000. Silage fermentation processes and their manipulation. In: Mannetje, L.T. Silage making in the tropics with particular emphasis on smallholders. Proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage 1 September to 15 December 1999.
- Ennahar, S., Y. Cai, & Y. Fujita. 2003. Phylogenetic diversity of lactic acid bacteria associated with paddy rice silage as determined by 16S ribosomal DNA analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 444–451.
- Ferreira, G. & D. R. Mertens. 2005. Chemical and physical characteristics of corn silages and their effects on in vitro

- dissappearance. *Journal of Dairy Science* 88: 4414 – 4425.
- Ferreira, W. M., A. D. P. N. Herrera, C. Scapinello, D. O. Fontes, L. C. Machado, & S. R. A. Ferreira.** 2007. Apparent digestibility of nutrients of simplified diets based on forages for growing rabbits. *Arg.Bras.Med.Vet. Zootec.* 59: 451–458.
- General Laboratory Procedure.** 1966. Departement of Dairy Science University of Wisconsin.
- Hassanat, F. A. F. Mustafa, & P. Seguin.** 2007. Effects of inoculation on ensiling characteristics chemical composition and aerobic stability of regular and brown midrib milled silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 139: 125 – 140.
- Haustein, S.** 2003. Evaluating Silage Quality. <http://www1.agric.gov.ab.ca> [12 Maret 2009].
- Hiraoka, H., E. Ishikuro, & T. Goto.** 2010. Simultaneous analysis of organic acids and inorganic anions in silage by capillary electrophoresis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 161: 58 – 66.
- Indikut, L., B. A. Arikani, M. Kaplan, I. Gaven, A. I. Atalay, & A. Kamalak.** 2009. Potential Nutritive Value of Sweet Corn as A Silage Crop with or without Corn Ear. Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture. Turkey.
- Jarkauskas, J. & V. Vrotniakienė.** 2004. Improvement of grass silage quality by inoculant with lactic bacteria and enzymes. *Veterinarija Ir. Zootechnika. T.* 28: 79–82.
- Kondo, M., N. Naoki, K. Kazumi, & H. O. Yokota.** 2004^a. Enhanced lactic acid fermentation of silage by the addition of green tea waste. *J. Sci. Food Agric.* 84: 728–734.
- Kondo, M., K. Kazumi, & H. O. Yokota.** 2004^b. Effect of tea leaf waste of green tea, oolong tea, and black tea addition on sudangrass silage quality and in vitro gas production. *J. Sci. Food Agric.* 84: 721–727.
- Kozelov, L. K., F. Iliev, A. N. Hristov, S. Zaman, & T. A. McAllister.** 2008. Effect of fibrolytic enzymes and an inoculant on in vitro degradability and gas production of low-dry matter alfalfa silage. *J. Sci. Food Agric.* 88: 2568–2575.
- Marco, O. N. D., M. A. Ressa, S. Arias, M. S. Aello, & M. Arzadun.** 2009. Digestibility of forage silage from grain, sweet and bmr sorghum types: Comparison of *in vivo*, *in situ* and *in vitro* data. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153: 161–168.
- McDonald, P., A. R. Henderson & S. J. E. Heron.** 1991. *The Biochemistry of Silage.* Cambrian Printers Ltd, Aberystwyth, Great Britain.
- McDonald, P., R. Edwards, & J. Greenhalgh.** 2002. *Animal Nutrition.* 6th Ed. New York.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingab, D. Fritz, & W. Schneider.** 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with ruminant liquor. *J. Agric. Sci.* 93: 217–222.
- Miron, J., E. Zuckerman, G. Adin, R. Solomon. E. Shoshani, M. Nikbachat, E. Yosef, A. Zenou, Z. G. Weinberg, Y. Chen, I. Halachmi, & D. B. Ghedalia.** 2007. Comparison of two forage sorghum varieties with corn and the effect of feeding their silages on eating behaviour and lactation performance of dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 139: 23 – 39.
- Miron, J., R. Solomon, G. Adin, U. Nir, M. Nikbachat, E. Yosef, A. Carmi, Z. G. Weinberg, T. Kipnis, E. Zuckerman, & D. B. Ghedalia.** 2006. Effect of harvest stage and re-growth on yield, composition, ensilage and in vitro digestibility of new forage sorghum varieties. *J. Sc. Food Agric.* 86: 140–147.
- Nadeau, E.** 2007. Effects of plant species, stage of maturity and additive on the feeding value of whole-crop cereal silage. *J. Sci. Food Agric.* 87: 789 – 801.
- Naumann, C. & R. Bassler.** 1997. *VDLUFA-Methodenbuch Band III, Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.* 3rd ed. VDLUFA-Verlag. Darmstadt, Germany.
- Nishino, N. & E. Touno.** 2005. Ensiling characteristic and aerobic stability of direct-cut and wilted grass silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *J. Sci. Food Agric.* 85: 1882 – 1888.
- Nishino, N., H. Harada, & E. Sakaguchi.** 2003. Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers' grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. *J. Sci. Food Agric.* 83: 557 – 563.
- Nishino, N., T. Kawai, & M. Kondo.** 2007. Changes during ensilage in fermentation products, tea catechins, anti-oxidative activity and in vitro gas production of green tea waste stored with or without dried beet pulp. *J. Sci. Food Agric.* 87: 1639–1644.
- O'Brian, M., P. O'Kiely, P. D. Forristal, & H. T. Fuller.** 2007. Visible fungal growth on baled grass silage during the winter feeding season in Ireland and silage characteristics associated with the occurrence of fungi. *Anim. Feed Sci. Technol.* 139 : 234–256.
- Orskov, E. R. & M. Ryle.** 1990. *Energy Nutrition in Ruminant.* London: Elsevier.
- Rizk, C, A. F. Mustafa, & L. E. Phillip.** 2005. Effects of inoculation of high dry matter alfalfa silage on ensiling characteristics, ruminal nutrient degradability and dairy cow performance. *J. Sci Food Agric.* 85 : 743–750.
- Tafaj, M., Q. Zebeli, B. Junck, H. Steingass & W. Drochner.** 2005. Effects of particle size of a total mixed ration on in vivo ruminal fermentation patterns and inocula characteristics used for in vitro gas production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124: 139–154.
- Tessema, Z. & R. M. T. Baars.** 2004. Chemical composition, in vitro dry matter digestibility and ruminal degradation of Napier grass (*Pennisetum purpureum* (L.) Schumach.) mixed with different levels of *Sesbania sesban* (L.) Merr. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117: 29 – 41.
- Titterton, M.** 2000. Grass and legume silages in the tropics. In: Mannetje, L.T. *Silage Making in the Tropics with Particular Emphasis on Smallholders.* Proceedings of the FAO Electronic Conference on Tropical Silage 1 September to 15 December 1999.
- Wang, C., Q. Liu, W.J. Huo, W.Z. Yang, K.H. Dong, Y.X. Huang, & G. Guo.** 2009. Effects of glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. *Livestock Science* 121: 15–20.
- Wannapat, M., R. Pilajun, & P. Kongmun.** 2009. Ruminal ecology of swamp buffalo as influenced by dietary sources. *Anim. Feed Sci. Technol.* 151: 205–214.
- Weissbach, F. & H. Honig.** 1996. Über die Vorhersage und Steuerung des Garungsverlaufs bei der Silierung von Grünfutter aus extensivem Anbau. *Landbauforschung Volkenrode*, 1: 10-17, Germany.
- Zamudio, D. M., J. M. Pinos-Rodríguez, S. S. González, P. H. Robinson, J. C. García, & O. Montaña.** 2009. Effects of *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck silage as forage on ruminal fermentation and growth in goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 148: 1–11.